Agarelektrophoretische Studien über das Verhalten der alkalischen Phosphatase in pathologischen Seren

von

Klaus Koch

aus Werdau/Sachsen

Erlangen 1963

1963 № 153

Aus der Medizinischen Klinik der Universität
E r l a n g e n - N ü r n b e r g
Direktor Prof. Dr. N. H e n n i n g

Agarelektrophoretische Studien über das Verhalten der alkalischen Phosphatase in pathologischen Seren

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich - Alexander - Universität
zu Erlangen - Nürnberg

Vorgelegt von Klaus Koch, Arzt aus Werdau in Sachsen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Referent: Professor Dr. N. Henning
Dekan: Professor Dr. G. Theissing

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Dez. 1963

Inhalt

Einleitung	1
Untersuchungsgut und Methoden	2
I. Untersuchungsgut	2
II. Methoden	3
Ergebnisse	5
1. Ergebnisse aus dem klinischen Untersuchungsgut	5
2. Verdünnungsreihen mit Seren hoher Fermentaktivität	6
3. Vergleichende Untersuchungen ein und derselben Seren unter verschiedenen Bedingungen	6
Diskussion	6
Zusammenfassung	15

Einleitung

Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase in agarelektrophoretisch getrennten Seren hat gezeigt, daß die Modifikation der herkömmlichen Methoden sowohl ein quantitatives als auch ein qualitatives Ergebnis liefert (5).

Diese ersten Untersuchungen ergaben, daß die Aktivität der alkalischen Phosphatase im wesentlichen an eine langsam wandernde a_2-Fraktion gebunden ist. Einzelne Beobachtungen an Seren mit besonders hoher Fermentaktivität sprachen dafür, daß auch eine Fraktion des ß-Bereiches als Träger-Protein der alkalischen Phosphatase in Frage kommt. Es kann sich hierbei um eine Art Kompensationsprinzip handeln, wobei - ähnlich wie bei einer Hyperbilirubinämie im Serum - die benachbarten Proteine Schlepperfunktionen mit übernehmen. Es kann sich aber auch um eine präformierte Komponente handeln, die möglicherweise in Abhängigkeit vom Krankheitsprozeß in Funktion tritt.

Es sollte deshalb in vorliegender Arbeit an einem größerem Krankengut geprüft werden, ob verschiedene Komponenten des Serums als Trägerfraktionen der alkalischen Phosphatase bestimmt sind und ob sich vielleicht Beziehungen zwischen Organherkunft und einer bestimmten Art der alkalischen Serumphosphatase ergeben. Insbesondere interessierte, ob Unterschiede zwischen gewebsfixierter und Serumphosphatase bestehen. Es sollte darüber hinaus die Frage erörtert werden, inwieweit sich die Fermentreaktion nach elektrophoretischer Trennung des Serums im Agargel als klinische Routinemethode gegenüber den bisherigen Verfahren der Direktbestimmungen im Serum einen Platz verschaffen kann. Dabei sollten unter anderem methodische Einflußgrößen auf das Verfahren beachtet werden.

Untersuchungsgut und Methoden

I. Untersuchungsgut

Es wurden insgesamt 103 Patientenseren mit erhöhter alkalischer Phosphatase sowie 14 Seren mit normalen Fermentwerten untersucht. Es wurden außerdem zum Teil die zugrundeliegenden Diagnosen, die blutchemischen sowie die serumelektrophoretischen Befunde mit berücksichtigt.

Im einzelnen setzte sich das Krankengut folgendermaßen zusammen:

43 Seren v. Pat. mit einer Hepatopathie, davon 27 mal Leberparenchymschaden und 16 mal Verschlußsyndrom

16 Seren v. Pat. mit Carcinomen mit Lebermetastasen

9 " " " " " ohne nachweisbare Lebermetastasen

5 " " " " einer Myeloblastose

1 Serum v. einem Pat. mit einer erworbenen hämolyt. Anämie

9 Seren v. Pat. mit Morb. Hodgkin

6 " " " " einer Milzvenenthrombose

2 " " " " " nicht hepatischen entzündl.Erkrankung

9 " " " " einem Eiweißmangelsyndrom

1 " eines Pat. mit Asthma bronchiale

1 " " " " einer Knochenmarksaplasie nach cytostatischer Behandlung bei einem Mamma-Carcinom.

II. Methoden

Fermentelektrophorese im Agar-Gel:

Die vorliegenden Analysen wurden nach den Angaben von SCHEIFFARTH u. Mitarb. (5) vorgenommen. Dabei mußte zunächst die agarelektrophoretische Trennung der Seren erfolgen. Hierzu wurde ein 2 %iges Agar-Puffergemisch mit Michaelis-Puffer pH 8,6, Ionenstärke 0,05 verwendet.

Die Agarplatten wurden in der Mitte mit Seren beschickt, wobei im einzelnen folgende Mischung und Menge zur Trennung gelangten:

0,3 ml Serum (hämolysefrei)

0,2 ml Aqua dest.

0,3 ml Agar.

Von diesem Gemisch wurden jeweils 0,2 bzw. 0,1 ml in die vorbereiteten Auftragsstellen der Agarplatte eingelassen. Anschließend wurde die elektrophoretische Auftrennung in einer feuchten Kammer bei einer Spannung von 90 - 110 V Gleichstrom und einer Stromstärke von 12 - 15 mAp vorgenommen.

Nach Beendigung des Trennvorganges (4 - 6 Stunden) wurden die Agarstreifen photoelektrisch im Elphorintegraphen unter Verwendung eines Grünfilters (Wellenlänge 546 mmü) gemessen. Die so erhaltenen Extinktionen dienten als Leerwerte. Anschließend wurde die Bestimmung der alkalischen Phosphatase im Agarstreifen nach dem Prinzip der Methode von Huggins und Talaly vorgenommen, d.h. es wurde der im Serum erhaltenen alkalischen Phosphatase Phenolphthaleindiphosphat zur hydrolytischen Spaltung angeboten, nach einer Zeit von 5 Stunden die Reaktion durch Alkalisierung mit Glykokollpuffer pH 11,6 abgebrochen und die dabei auftretende rote Farbe des freigesetzten Phenolphthaleins kolorimetrisch ausgewertet.

Für die Fermentreaktion fanden folgende Reagenzien Verwendung (Modifikation nach (6)):

1. Alkalische Substratpufferlösung (Reagenz I)

   10,3 g Veronal-Natrium
   6,5 ml n/10 Natronlauge
   0,304 g Phenolphthaleindiphosphat wurden auf 500 ml mit Aqua dest. aufgefüllt und zur Konservierung wurden 3,75 ml Chloroform hinzugefügt.

2. Glykokollpuffer (Reagenz II)

   4,595 g Glykokoll p.A.
   5,85 g Natriumazetat p.A.
   3,585 g Natriumchlorid
   50 ml 1/n Natronlauge (karbonatfrei) wurden in 400 ml aufgekochtem Wasser gelöst. Dazu wurden 20,0 g Natriumpyrophosphat zugegeben und das Ganze auf 500 ml mit aufgekochtem Aqua dest. aufgefüllt.

Die Agarstreifen wurden mit einer doppelten Lage Filtrierpapier (Whatmann No I) bedeckt, das mit Reagenz I getränkt war und bei Zimmertemperatur 5 Stunden stehen gelassen. Anschließend wurde die Farbreaktion durch Tränkung der Papierstreifen mit Glykokollpuffer (Reagenz II) ausgeführt. Die Auswertung der Streifen erfolgte 30 Min. nach Hinzufügen von Reagenz II im Elphorintegraphen unter den gleichen Bedingungen,wie bei der Ermittlung des Leerwertes bereits geschildert. Die so gewonnenen Kurven wurden planimetrisch ausgewertet. Durch Substraktion der Leerwerte von den Extinktionswerten nach vollendeter Farbreaktion wurden schließlich die endgültigen Ergebnisse, gemessen in Planimetereinheiten,bestimmt. Die Planimeterwerte sind das Maß der von der Extinktionskurve begrenzten Fläche. 1 Planimetereinheit = 0,25 qcm.

Parallel zu den genannten Untersuchungen wurde noch die alkalische Phosphatase in den einzelnen Seren nach der Routinemethode quantitativ bestimmt.

Papierelektrophorese

Die Papierelektrophorese wurde nach den Angaben von Graßmann und Hannig mit Michaelis-Puffer pH 8,6, einer Ionenstärke 0,4, einer Spannung von 90 - 110 V und somit einer Laufzeit von 12 - 14 Stunden ausgeführt.

Ergebnisse

1. Ergebnisse aus dem klinischen Untersuchungsgut:

Die vorliegenden Ergebnisse an Seren mit nicht wesentlich erhöhter alkalischer Phosphatase zeigen praktisch nur eine geringe Farbreaktion vorwiegend im Bereich der a_2-Fraktion und der Startstelle. Die planimetrisch ermittelten Werte bewegten sich in diesen Fällen zwischen 2 und 22 PE. M = 11,16.

Die fermentaktivsten Seren fanden sich in der Gruppe der Stauungshepatopathien. Hier wurden bis zu 206 PE ermittelt. Stark erhöhte Werte fanden sich auch bei Pat. mit Morb. Hodgkin und in einem Fall einer hämolytischen Anämie.

Auch in diesen Seren wurde die alkalische Phosphataseaktivität auf Grund der Farbreaktionen vorwiegend im a_2-Bereich gefunden (Abb.1a). Von den insgesamt 103 untersuchten Seren fiel jedoch die Farbreaktion in 33 Fällen mehr in den Bereich der ß-Globuline (Abb.1b) (siehe auch Tabelle 1). Bei ikterischen Seren war das Bilirubin im Albuminbereich deutlich faßbar (Abb. 2). Im Diagramm erschien diese Komponente als mehr oder weniger hoher Gradient vor dem Gipfel der alkalische

Phosphatase.

2. Verdünnungsreihen mit Seren hoher Fermentaktivität:
Verdünnungsreihen mit Seren hoher Fermentaktivität haben gezeigt, daß bei geometrischer Verdünnung 1 : 2 ein steiler Abfall, bei weiterer Verdünnung bis zu 1 : 4 ein flacherer Abfall, hier in den meisten Fällen bis 0 erfolgt. (s. Abb. 3a u. 3b!) Bei Seren mit geringer Konzentration verläuft die Kurve insgesamt flacher. Eine Abhängigkeit der im Agar ermittelten alkalischen Phosphataseaktivität vor dem direkt im Serum bestimmten Phosphatasewerten besteht. Sie ist jedoch nicht linear.

3. Vergleichende Untersuchungen ein und derselben Seren unter verschiedenen Bedingungen, d.h. unter verschieden langer Einwirkungsdauer des Reagenz I wie des Reagenz II, ergaben, daß insbesondere die Einwirkung des Reagenz II ein Optimum erfordert, um zu stichhaltigen quantitativen Ergebnissen zu gelangen (Abb. 4). Sie beträgt nach vorliegenden neueren Studien 45 Minuten. Andere technische Faktoren, die berücksichtigt werden müssen, wurden bereits in einer früheren Mitteilung (5) dargelegt.

4. Beziehungen zwischen den alkalischen Phosphatasewerten und bestimmten Serumlabilitätstesten oder bestimmten Serum-Eiweißfraktionen, hier etwa der a_2- und ß-Globuline, konnten nicht aufgezeigt werden.

Diskussion

Die agarelektrophoretische Variante der Bestimmung der alkalischen Phosphatase bietet nach eigenen früheren (1) und nach den hier vorliegenden Untersuchungsergebnissen gewisse Vorteile im Vergleich zu den herkömmlichen Direkt-

In Abb. 1a liegt der Gipfel der Extinktion der Farbreaktion im Bereich der a_2-Globuline.

Abb. 1b zeigt den Gipfel der Extinktion der Farbreaktion im Bereich der β_1-Globuline.

Diagnose		Anzahl der Seren	alkalische Phosphatase		
			vorwiegend α_2-Bereich	vorwiegend α_2/ß-Bereich	vorwiegend ß-Bereich
Hepatopathien	Leberparenchymschäden	27	16	2	9
	Verschlußsyndrom	16	14		2
Carcinome mit Lebermetastasen		16	14		2
Carcinome ohne nachweisbare Lebermetastasen		9	1		8
Myeloblastosen		5			
Erworbene hämolytische Anämie		1			
Morb. Hodgkin		9	5	2	2
Milzvenenthrombose		6	3		3
Nichthepatische entzündliche Erkrankungen		2	2		
Asthma bronchiale		1	1		
Knochenmarksaplasie nach cytostat. Beh. bei Mamma-Carcinom		1		1	
Eiweißmangelsyndrom		9	9		

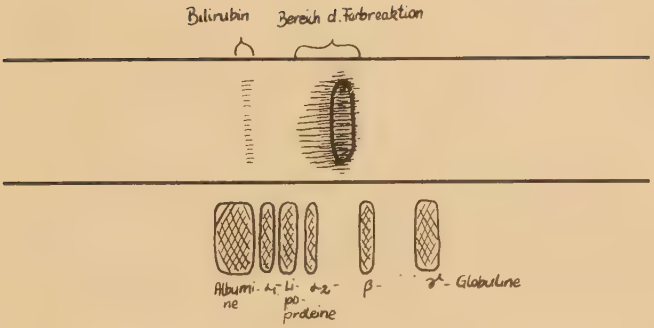

Abb. 2a zeigt schematische Darstellung eines Agarstreifens mit Farbreaktion der alkalischen Phosphatase an der Auftragstelle und im Bereich der a_2-Globuline. Das Bilirubin ist bis zur Serum-Albumin-Fraktion mitgewandert.

Abb. 2b: Das Diagramm zeigt eine größere, durch die Farbreaktion der alkalischen Phosphatase verursacht und eine kleinere Extinktion, die durch die stärker anodisch gewanderte Bilirubinfraktion entstanden ist.

bestimmungen im Vollserum, d.h. sie stellt eine Bereicherung der üblichen Labormethoden dar.

Dies wird damit begründet, daß durch die elektrophoretische Trennung einerseits eine Differenzierung der Trägerfraktionen für alkalische Phosphtase ermöglicht wird und daß andererseits die quantitative Auswertung an den getrennten Fraktionen stichhaltiger wird, da Faktoren im Vollserum, etwa Farbstoffe vom Typ des Bilirubins oder Hämoglobins oder Fermentinhibitoren weitgehend ausgeschaltet werden können. Erfahrungsgemäß handelt es sich bei einem Großteil der Seren mit alkalischer Phosphataseaktivität um Verschlußsyndrome mit hohem Serumbilirubinspiegel. Bei elektrophoretischer Trennung wandert Bilirubin bekanntlich vorwiegend mit den Albumin- bzw. mit a_1-Globulin-Fraktionen, während die alkalische Phosphatase auf Grund der entsprechenden Farbreaktionen prinzipiell unmittelbar anodisch und kathodisch um den Start, d.h. im a_2- bis ß-Bereich, in Erscheinung tritt. Somit können also Überlagerungen durch die unphysiologische Anreicherung von Farbstoffen unberücksichtigt bleiben.

Die Vermutung einer Differenzierung wenigstens in zwei Serumkomponenten mit alkalischer Phosphataseaktivität wurde bereits in früheren, eigenen, allerdings weniger umfangreichen Studien ausgesprochen. Diese Annahme wurde durch die vorliegenden Ergebnisse erhärtet. Dabei ist auffällig, daß bei Erkrankungen der Leber, und zwar unabhängig von der Verursachung der Lebererkrankungen, die alkalische Phosphatase sich vorwiegend im a_2-Bereich nachweisen läßt. Dabei scheinen wiederum unter den Lebererkrankungen diejenigen mit Verschluß- bzw. Stauungssyndromen weit mehr diesem Typus anzugehören als die

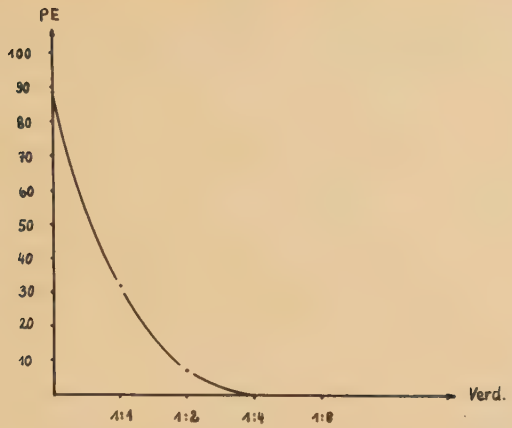

Abb. 3a zeigt geometrische Verdünnungsreihe. Steiler Abfall bis zur Verdünnung 1 : 2, bei der Verdünnung 1 : 4 erreicht die Kurve hier die Abszisse.

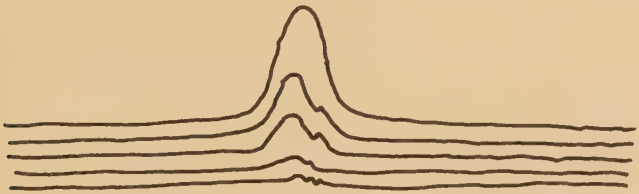

Abb. 3b zeigt durch Elphorintegraphen dargestellte Verdünnungsreihe.

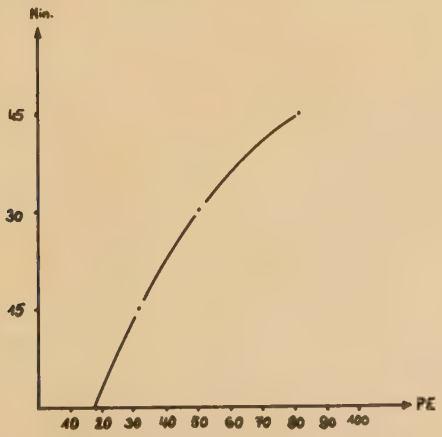

Abb. 4 zeigt die verschieden lange Einwirkungsdauer des Reagenz II.

primären Leberparenchymschäden mit intrahepatischer Stauung, von denen immerhin 11 unter 27 Seren auch im β_1-Bereich alkalische Phosphataseaktivität aufweisen. Auffällig ist demgegenüber, daß die alkalische Phosphataseaktivität bei Carcinomen ohne Leberbeteiligung in 8 von 9 geprüften Seren vorwiegend im ß-Bereich auftrat. Bei Morbus HODGKIN fand sich die Phosphataseaktivität unterschiedlich, einmal mehr im a_2-Bereich, in anderen Fällen zugleich oder vorwiegend im β_1-Bereich: von 9 Seren von Pat. mit Lymphogranulomatose wiesen 4 eine Fermentaktivität vorwiegend im ß-Bereich auf.
Alle übrigen Seren mit verschiedenen Diagnosen (portaler Stauungsprozeß, entzündliche Erkrankungen u.a.) zeigten alkalische Phosphataseaktivität vorwiegend im a_2-Bereich.
Aus dieser zusammenfassenden Wiedergabe der Ergebnisse läßt sich zwar eine absolute Gesetzmäßigkeit der Zuordnung der alkalischen Serumphosphatase zu bestimmten Organprozessen im einzelnen nicht erkennen. Es ist jedoch auffällig, daß bei Erkrankungen mit malignen zellulären Entartungsreaktionen, also bei Carcinomen und bei Myeloblastosen, alkalische Phosphataseaktivität fast ausschließlich im ß-Bereich nachzuweisen war. Dies legt den Schluß nahe, daß zwei Arten von alkalischer Phosphatase in Abhängigkeit von ihrer Organ- bzw. Gewebsherkunft existieren, eine die vorwiegend an a_2-Fraktionen und eine weitere, die an Proteine vom Typ der β_1-Globuline gebunden ist. Die a_2-Phosphatase scheint dabei mesenchymalen Elementen zu entstammen, während die β_1-Phosphatase eine Variante darstellen dürfte, die von leukocytären bzw. metaplastischen Zellelementen freigesetzt wird. Diese Beobachtung ist vergleichbar mit anderen Untersuchungsergebnissen (7), wonach in Abhängigkeit von der Organ-

herkunft z.B. verschiedene Dehydrasen nachgewiesen werden können. Die Milchsäure-Dehydrase (LDH)ist, in Abhängigkeit von der Organfreisetzung, an unterschiedliche Trägerfraktionen des Serums gebunden. Man findet eine Anreicherung der LDH im a_2-Bereich bei Herzmuskelerkrankungen und eine Vermehrung der LDH im β/γ -Bereich bei akuten Leberparenchymprozessen.

Weitere eigene Studien an Organextrakten von Leber (3), Milz (4), Niere (1) und Magen (2) mit Bestimmung der alkalischen Phosphatase haben gezeigt, daß die Parenchymphosphatase vorwiegend im a_2-Bereich anzutreffen ist. Dies erhärtet die hier gezogenen Schlußfolgerungen, daß Parenchymphosphatasen bei Prozessen mit Permeabilitätsstörungen eine Anreicherung der entsprechenden Phosphatase im Serum bedingt.

Eine Agareigenschaft ist bei vorliegenden Untersuchungen in Sonderheit zu berücksichtigen, nämlich die starke Hydratation des Gels, wodurch erhebliche Diffusionsmöglichkeiten der im Agar gewanderten Substanzen gegeben sind. Farbstoffe sind hiervon - wenn auch in Abhängigkeit von inrer Molekülgröße und -form - in besonderem Maße betroffen. Es ist deshalb beim methodischen Arbeitsgang auf den unverzüglichen Ablauf der einzelnen Phasen zu achten, insbesondere im letzten Untersuchungsgang nach Auftreten der Farbreaktion: Nach optimaler Ausbildung der Rotfärbung ist die sofortige photometrische Auswertung erforderlich. Zu anderen technischen Daten wurde in einer früheren Arbeit bereits eingehend Stellung genommen (5).

Es sei außerdem noch darauf hingewiesen, daß zwischen den Befunden der Direktbestimmung und den agarelektrophoretisch erzielten Ergebnissen bei Untersuchung der alkalischen Phosphatase im Serum Differenzen bestehen, daß jedoch die Methoden prinzipiell vergleichbar sind. Diese Unterschiede sind, wie oben bereits aus-

geführt, wohl damit zu erklären, daß in einem Fall die Bestimmung der alkalischen Phosphatase an elektrophoretisch isolierten Fraktionen, im anderen Fall der Nachweis im Vollserum erfolgt.

Die Fermentaktivität setzt ein gewisses Bindungsvermögen entsprechender Serumeiweißkörper voraus, wobei das Verhältnis zwischen der Kapazität eines Eiweißmoleküls zur Aktivität des Fermentes bisher nicht exakt bestimmbar ist. Somit ist es erklärbar, weshalb zwischen dem Ausfall der Serumlabilitätsteste und insbesondere einem Dysproteinämietyp mit der alkalischen Phosphataseaktivität keine Gesetzmäßigkeiten aufgezeigt werden konnten.
Insgesamt dürfte also die agarelektrophoretische, quantitative Bestimmung der alkalischen Phosphatase in pathologischen Seren in geeigneten Krankheitsfällen als differentialdiagnostische Maßnahme nicht nur für die Grundlagenforschung, sondern auch für klinische Fragestellungen Bedeutung erlangen.

Zusammenfassung

Es wurden insgesamt 103 Seren mit erhöhter alkalischer Phosphatase und 14 Normalseren agarelektrophoretisch getrennt und nachfolgend mit Hilfe der Untersuchungsmethoden von HUGGINS und TALALY auf ihren Gehalt an alkalischer Phosphatase geprüft. Hierbei ergab sich zunächst, daß diese Methode sowohl quantitative als auch qualitative Aussagen über die alkalische Serumphosphatase gestattet. Die Ergebnisse zeigten insgesamt, daß alkalische Phosphataseaktivität abgesehen vom Start, im a_2- als auch im ß-Bereich nachgewiesen werden kann. Die alkalische Phosphatase der Normalseren findet sich im a_2-Bereich. Bei Erkrankungen mit portaler Stauung, aber auch bei entzündlichen Prozessen findet sich eine Anreicherung der alkalischen Phosphatase ebenfalls im a_2-Bereich.

Dagegen hat sich bei generalisierten Carcinosen sowie Myeloblastosen die Anreicherung der alkalischen Phosphatase im wesentlichen im ß-Bereich gezeigt.

Diese vorliegenden Ergebnisse werden im Hinblick möglicherweise unterschiedlicher Organ- bzw. Zellherkunft diskutiert. Desgleichen wird kurz auf die Bedeutung der Methode eingegangen.

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Adam	16. 8.1962	55	stark anodisch	Biliäre Cirrhose
Dr. Ihrig	24. 9.1961	103,8	etwas mehr anodisch	Hepatitis epidemica
Broide	4. 2.1962	36,3	stark kathodisch	Lebercirrhose
Burkel	28. 8.1962	20,0	mehr kathodisch	Hepatopathie
Döll	15. 9.1962	23,0	mehr kathodisch	Stauungsikterus
Dotterweich	15. 8.1962	19,5	stark kathodisch	Struma maligna
	22.8. 1962	35,7	mehr kathodisch	
Engel	9. 6.1961	180,5	mehr anodisch	Endocarditis lenta
	10. 6.1961	180,5	mehr anodisch	
Engelhardt	12.10.1961	19,5	etwas mehr anodisch	Morb. Hodgkin
	31.10.1961	20,0	mehr anodisch	
	8.11.1961	20,0	mehr kathodisch	
Feist	18. 9.1962	206,6	etwas mehr anodisch	Lebercirrhose
	18. 9.1962	206,6	etwas mehr anodisch	
	20. 9.1962	206,6	mehr anodisch (unverd.)	
			stark anodisch (Verd.1:1)	
			stark anodisch (" 1:2)	
			stark anodisch (" 1:4)	
Fiechtler	31.10.1961	16,3	nicht eindeutig	Totale Knochenmarksaplasie nach cytostat. Behandlung bei Mamma-Ca.
Finck	12.10.1961	22,6	etwas mehr kathodisch	In die Leber eingebrochenes Hypernephrom
	18.10.1961	22,6	mehr kathodisch	

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Förther	27. 8.1962	20,5	stark anodisch	Lebermetastasen? Lebercirrhose
Friedrich	16. 8.1962	120,0	stark anodisch	Pankreas-Ca.
	16. 8.1962	184,0	etwas mehr anodisch	
	22. 8.1962	220,0	etwas mehr anodisch	
	22. 8.1962	217,0	etwas mehr anodisch	
	31. 8.1962	220,0	1.stark anodisch	
	31. 8.1962	200,0	2.stark anodisch	
	31. 8.1962	249,0	stark anodisch	
	1. 9.1962	249,0	stark anodisch	
	5. 9.1962	249,0	stark anodisch	
Fuckner	25. 5.1953	95,2	1.stark anodisch (unverd.) 2.stark anodisch (Verd.1:1) 3.stark anodisch (" 1:2)	Verschlußikterus
Greiner	12.10.1961	18,6	etwas mehr anodisch	Morb. Hodgkin
Greissinger	16. 8.1962	30,4	stark anodisch	Divertikulosis d.Sigma
	28 8.1962	30,4	stark anodisch	Spond. def. d. LWS. Leichte
	5. 9.1962	88,4	1.stark anodisch 2.stark anodisch 3.stark anodisch 4.etwas mehr anodisch	hyperchrome Anämie. Pleurawinkelergüsse
	8. 9.1962	88,4	1.stark anodisch 2.mehr anodisch 3.stark anodisch	
Günther	20. 9.1961	77,6	stark anodisch	Metastasierendes Magen-Ca.

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Häupl	12.10.1961	38,1	1.etwas mehr anodisch 2.mehr anodisch	Metastasierendes Magen-Ca.
Herzog	1.10.1961	22,6	mehr anodisch	Asthma bronchiale
Hubeny	31. 8.1962	36,3	1.stark anodisch 2.mehr anodisch	Stammikterus mit sek. Parenchymschädigung
	1. 9.1962	36,3	stark anodisch	
Hullen	22. 8.1962	10,6	mehr anodisch	Chron. Hepatitis
Heidmann	20. 9.1962	39,7	nicht eindeutig	Morb. Hodgkin
	22. 9.1962	39,7	1.mehr anodisch(unverd.) 2.mehr anodisch (Verd.1:1) 3.nicht eindeutig(" 1:2)	
Klier	15. 9.1962	15,8	nicht eindeutig	Lebercirrhose mit Cholestase
Klopfer	18. 9.1962	31,0	nicht eindeutig	Chron.Hepatitis mit Übergang in Cirrhose
Knaak	29. 5.1961	20,0	mehr kathodisch	Myeloische Leukose
	2. 6.1961	20,0	1.etwas mehr kathodisch 2.etwas mehr kathodisch 3.etwas mehr kathodisch	
Lau	21. 9.1961	117,0	stark anodisch	Verschlußikterus, Hyperacidität
	1.10.1961	117,0	etwas mehr anodisch	
Lehle	22. 8.1962	163,0	mehr kathodisch	Knochenmetastasen im Schädel und im Humeruskopf. Hypertonie Prädiabetes

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Lorek	18. 9.1962	16,3	stark kathodisch	Hämolyt.Anämie
List	8.11.1961	19,6	stark anodisch	Adeno-Carcinom des Dickdarms
v.Loewenich	12.10.1961	28,6	mehr kathodisch	erworbene hämolyt.Anämie
Lutz	22. 8.1962	28,4	1.etwas mehr anodisch 2.mehr anodisch,Intensitätsmax. kath.	Verschlußikterus
	18. 9.1962	28,4	1.stark anodisch 2.stark anodisch	
Meiler	1.10.1961	26,0	1.etwas mehr anodisch 2.mehr anodisch	Chron. Hepatitis
Meyer	20. 9.1962	44,2	stark anodisch	Adeno-Carcinom d. Coecums m.Lebermetastasen
	18. 9.1962	44,2	stark anodisch	
Morgner	18. 9.1962	12,0	mehr kathodisch	Hepatopathie
Müssenberger	31. 8.1962	33,0	etwas mehr kathodisch	Milzvenenthrombose, leukäm. Reaktion, Hodgkin?
	15. 9.1962	33,0	1.etwas mehr kathodisch 2.etwas mehr kathodisch	
	15. 9.1962	25,5	1.etwas mehr anodisch 2.etwas mehr anodisch 3.etwas mehr anodisch	
Penzbüsch	1.10.1961	90,0	mehr anodisch	
Pfann	8.11.1961	22,2	stark kathodisch	Chron. Hepatitis, Cholostase

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Puchwein	8.11.1961	14,7	stark kathodisch	Lebercirrhose
Renius	31. 5.1961	19,5	1.etwas mehr anodisch 2.etwas mehr anodisch 3.etwas mehr anodisch	
Schatz	22. 9.1962	41,9	mehr kathodisch	Lebercirrhose
Schander	31.10.1961	20,8	stark anodisch	
Schmidt	12.10.1961	33,0	mehr kathodisch	Morb. Hodgkin
Schubert	12.10.1961	20,5	mehr anodisch	
Siegling	20. 9.1962	35,5	mehr kathodisch	Lebercirrhose
Sommer	22. 8.1962 31. 8.1962 1. 9.1962 20. 9.1962	175,5 175,5 175,5 175,5	mehr kathodisch stark kathodisch mehr kathodisch stark kathodisch	Mamma-Ca.
Strampfer	31.10.1961	16,3	mehr anodisch	
Stummvoll	22. 9.1962	20,0	1.mehr anodisch 2.etwas mehr kathodisch	
Wäckerle	31. 8.1962 31. 8.1962 1. 9.1962	45,0 45,0 45,0	mehr anodisch mehr anodisch mehr anodisch	Hepatitis epidemica

Name	Datum	Phosphat. Aktivität in HE	Wanderung	Diagnose
Weingärtner	8.11.1961	38,8	mehr kathodisch	Pancoast-Tumor
Wichert	12.10.1961 8.11.1961	87,0 58,0	mehr anodisch etwas mehr kathodisch	Cholelithiasis d.Gallenblase u.d.großen Gallengänge,Cholangitis
Wumann	12.10.1961	47,0	stark anodisch	Cholangitis, stenosierender Prozeß an der Vaterschen Papille
Zellhofer	22. 9.1962	28,2	etwas mehr kathodisch	Hepatopathie
Zenger	31. 8.1962	18,0	stark anodisch	vitium cordis, Cirrhose Cardiaque.

Personalien	Datum	Phos. Akt.	Tak.	Thy.	Bilir.	GEW.	Eiweißelektrophorese Alb.	a_1	a_2	ß	ga	A/Gl.	Wanderung	Diagnose
Anna Adam 55 J.	18. 6.62	55,0	60	14.8		8,6	40,8 3,5	5,3 0,5	10,2 0,9	14,6 1,2	29,2 2,5	0,83	st.an.	Biliäre Cirrh.
Leo Broide 67 J.	4. 2.62	36,3	Ø	10,7	u.1	6,6	45,4 2,99	7,88 0,52	13,9 0,9	19,9 0,92	19,3 0,9	0,83	st.kt.	Lebercirrh. Pankreopath.
Edmund Döll 74 J.	15. 9.62	23,0	Ø	1,2	17,76	6,6	44,4 2,88	9,38 0,61	13,1 0,7	14,38 0,93	18,75 1,22	0,80	m. kt.	Stauungsikt.
Betty Dotterweich 57 J.	15. 8.62	19,5	Ø	19,0	u.1	6,1	47,62 0,29	6,25 0,43	13,2 0,9	15,18 1,05	17,86 1,23	0,91	st.kt.	Struma malig
Leopold Engelhardt 49 J.	8.11.61 31.10.61 12.10. 61	20,0 20,0 19,5	Ø	19,0	u.1	6,1	58,28 3,79	4,73 0,29	8,86 0,58	11,66 0,76	16,78 1,09	1,4	m. kt. m. an. e.m.an.	Morb.Hodgkin
L.Fiechtler 79 J.	31.10.61	16,3	Trbg.	15,7	u.1	5,3	52,93	7,32	10,24	11,22	18,29	1,12	n.ein.	Totale Knochenmarksplasie n. Cytost. Mamma Ca.
Carl Finck 67 J.	12.10.61 18.10.61	22,6 22,6	Ø	5,0	u.1	5,6	41,36	11.92	19,46	11,68	15,57	0,71	e.m.kt.	in d.Leber eingebr. Hypernephrom
Fritz Förther 59 J.	27. 8.62	95,2	40	3,4	2,4	7,9	38,97 3,08	5,9 0,47	12,05 0,95	12,31 0,97	30,77 2,43	0,64	st.an.	Lebercirrh. Metastasen?

Personalien	Datum	Phos. Akt.	Tak.	Thy.	Bilir.	GEW.	Eiweißelektrophorese Alb.	a_1	a_2	ß	ga.	A/Gl.	Wanderung	Diagnose
Josef Friedrich 71 J.	16. 8.62	120,0	60	10,7	12,96	6,6	41,7	7,6	11,5	14,2	25,0	0,72	st.an.	Pankreas-Ca.
		184,0					2,8	0,5	0,8	0,9	1,6		e.m.an.	
	22. 8.62	220,0											e.m.an.	
		217,0											e.m.an.	
	31. 8.62	220,0											st.an.	
		220,0											st.an.	
		249,6											st.an.	
	1. 9.62	249,6											st.an.	
	5. 9.62	249,6												
Irmgard Greiner 28 J.	12.10.61	18,6	Ø	10,4	u.1	5,9	40,58	9,76	20,62	12,2	16,85	0,68	e.m.an.	Morb.Hodgkin
							2,39	0,58	1,22	0,72	0,99			
Günther Illichmann 23 J.	22. 9.62	39,7	Ø	3,3	6,22	8,7	45,5	7,3	15,6	14,5	17,6	0,91	1.m.an. (unverd.)	
							3,9	0,6	1,3	1,2	1,5		2.m.an. (Vd.1:1)	
													3.n.eind. (Vd.1:2)	
	20. 9.62	39,7											n.eind.	
Clara Hubeny	28. 8.62	36,6	Ø	8,2	1,36		37,9	9,1	19,4	15,3	18,3	0,61	st.an.	Stauungsikt. m.sek.Par.
Christine Herzog 68 J.	1.10.61	22,6	Ø	2,0	u.1	7,0	52,46	6,09	11,01	14,99	15,45	1,10	m.an.	Asthma bron.
							3,67	0,43	0,77	1,05	1,08			
Karl Klier 52 J.	15. 9.62	15,8	50	u.20	1,09	7,2	46,03	5,60	6,49	9,73	32,15	0,76	n.eind.	Lebercirrh. Cholostase
Max Knaack 55 J.	29. 5.61	20,0	50	15,2	u.1	5,8	49,62	7,16	14,32	11,51	17,39	0,98	m. kt.	myeloische Leukose
	2. 6.61	20,0					2,88	0,42	0,83	0,67	1,00		1.e.m.kt.	
													2.e.m.kt.	
													3.e.m.kt.	

Personalien	Datum	Phos. Akt.	Tak.	Thy.	Bilir.	GEW.	Eiweißelektrophorese Alb.	a_1	a_2	ß	ga.	A/Gl.	Wanderung	Diagnose
Charlotte Lau 60 J.	21. 9.61	117,0	Ø	Ø	7,32	6,5	40,15 2,61	9,98 0,65	13,72 0,89	14,71 0,96	21,44 1,39	0,67	st.an.	Verschluß-ikterus
	1.10.61	117,0											m. an.	
Ida Lehle 62 J.	22. 8.62	163,0	90	10,7	1,0	6,6	56,00 3,95	6,14 0,49	12,27 0,97	13,8 1,09	17,79 1,41	1,27	m. kt.	Knochenmetastaden im Schädel u.im Humeruskopf. Hypertonie u. Prädiabetes
Hermann Lorek 64 J.	18. 9.62	16,3	Ø	5,0	5,55	7,0	67,09 4,70	5,43 0,38	5,43 0,38	8,95 0,63	13,10 0,92	2,04	st.kt.	Hämolytische Anämie
Jutta v.Loewenich 57 J.	12.10.61	28,8	Tbg.	14,8	u.1	6,5	45,34 2,95	8,56 0,56	8,56 0,56	9,32 0,64	27,71 1,8	2,04	m. kt.	Erworbene hämolyt. Anämie
Maria Meiler 49 J.	1.10.61	19,6	Ø	14,7	u.1	5,6	49,38 2,77	7,05 0,39	8,92 0,5	13,07 0,73	21,58 1,23	0,98	1.e.m.an 2. m.an.	Chron.Hepat. Struma nod.
Hermann Meyer 31 J.	20. 9.62	44,2	Ø	3,3	u.1	8,3	51,1 4,2	7,4 0,6	13,1 1,1	13,9 1,2	14,5 1,2	1,02	st.an.	Coecum-Adeno-Ca.m.Leber-metastasen
	18. 9.62												st.an.	
Fritz Müssenberger 43 J.	31. 8.62	33,0	Ø	11,0	u.1	7,2	49,02 3,53	4,90 0,35	9,56 0,69	14,85 1,08	21,57 1,55	0,96	e.m.kt.	Milzvenen-thrombose, leuk.Reaktion, Hodgkin ?
	15. 9.62	33,0											1.e.m.kt.	
	15. 9.62	25,5											2.e.m.kt. 1.e.m.an. 2.e.m.an. 3.e.m.an.	
Konrad Pfann 39 J.	8.11.61	22,2	60	ü.20		6,9	45,71 3,20	6,86 0,48	8,86 0,62	14,86 1,04	23,71 1,66	0,84	st. kt.	Chron.Hepatitis,Cholostase

Personalien	Datum	Phos. Akt.	Tak.	Thy.	Bilir.	GEW.	Eiweißelektrophorese Alb.	a_1	a_2	ß	ga.	A/Gl.	Wanderung	Diagnose
Gustav Puchwein 44 J.	8.11.61	14,7	50	ü.20		7,4	44,3 3,28	5,64 0,39	8,5 0,63	9,95 0,74	30,01 2,36	0,80	st. kt.	Lebercirrh.
Maria Sommer 56 J.	22. 8.62	175,5	90	7,0	u.1	6,6	46,1 3,0	6,7 0,4	13,4 0,9	11,8 0,8	22,0 1,5	0,86	m. kt.	Mamma-Ca.
	31. 8.62	175,5											st. kt.	
	1. 9.62	175,5											m. kt.	
	20. 9.62	175,5											st. kt.	
Hans Wäckerle 44 J.	31. 8.62	45,0		7,4		7,4	60,35 4,47	5,83 0,43	8,75 0,65	11,66 0,86	13,41 0,99	1,55	st. an.	Hepatitis epidemica
	31. 8.62	45,0											m. an	
	1. 9.62	45,0											m. an.	
Ludwig Weingärtner 46 J.	8.11.61	38,8	90		u.1	5,8	33,01 1,91	12,14 0,70	17,72 1,03	12,86 0,75	24,27 1,41	0,49	m. kt.	Pancoast-Tu.
Anna Wichert 35 J.	12.10.61	87,0	Ø	10,7	u.1	7,0	49,81 3,49	6,27 0,44	11,22 0,79	12,17 0,85	20,53 1,44	0,99	m. an.	Cholelithiasis,Cholang.
	8.11.61	58,0											e.m.an.	
Gertrud Wiemann 65 J.	12.10.61	47,0	Ø	12,7		7,2	50,89 3,66	4,02 0,29	11,83 0,85	14,73 1,06	18,53 1,33	1,04	st. an.	Cholangitis stenosier. Proz.d.Vaterschen Papill
Babette Zenger 64 J.	31. 8.62	18,0	50	12,4	u.1	6,1	40,94 2,50	6,25 0,38	9,06 0,55	12,50 0,76	31,25 1,91	0,69	st.an.	vitium cordis,Cirrh. cardique
	18. 9.62	18,0											m. kt.	

Die Arbeit möchte ich nicht beschließen, ohne Herrn Prof.Dr.N.HENNING für die Überlassung des Themas, sowie Herrn Prof.Dr.F.SCHEIFFARTH für die Anregungen in sachlichen Fragen und für die allzeit liebenswürdige Beratung zu danken.
Fräulein Dr.H.GÖTZ und Herrn Dr.H.WARNATZ sei vielmals für die freundliche Anleitung und für die experimentelle Grundlage gedankt.

Literatur:

(1) GÖTZ H., F. SCHEIFFARTH u. N. AL-SAFFAR:
Weitere agarelektrophoretische Studien an menschlichen Organextrakten (Untersuchungen von Nierenextrakten).

(2) GÖTZ H., F. SCHEIFFARTH u. I. DÜBELER:
Vergleichende elektrophoretische und immunoelektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens.
Gastroenterologia 98, 30 - 47 (1962)

(3) GÖTZ H., F. SCHEIFFARTH u. G. GAST:
Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten.
Zschr. Gastroenterologie 1964 (im Druck).

(4) SCHEIFFARTH F., H. GÖTZ u. D. HOFFMANN:
Agarelektrophoretische Studien zur Charakterisierung von menschlichen Milzextrakt.
Zschr. Klin. Chemie (im Druck).

(5) SCHEIFFARTH F., H. WARNATZ u. H. GÖTZ:
Zum qualitativen und quantitativen Nachweis der alkal. Phosphatase im Serum mit Hilfe der Agarelektrophorese.
Med. Welt 1961, 2220.

(6) SCHÖN H.:
Blutchemie. In HENNING N., Klinische Laboratoriumsdiagnostik, Urban & Schwarzenberg, München u. Berlin, 2. Auflage 1960, S.96.

(7) WIEME R.J.
a) Studies in Agar-Gel Electrophoresis.
Arscien Uitgaven N. V. Brüssel 1959.
b) Applications diagnostiques de l'electrphorèse
Protides biol. Fluids (Proc. VI th Coll. Prot. Brügge, Mai 1958), p. 236. Elsevier Publ. Co. Amsterdam 1959.

(8) WÜST H., BERG G. und SCHÖN H.:
Untersuchungen über die differentialdiagnostische Bedeutung von Fermentbestimmungen in präparativ getrennten Serumeiweißfraktionen.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66 216 (1960).

L e b e n s l a u f

Am 6. April 1936 wurde ich, Klaus Volker K o c h als Sohn des Facharztes für Chirurgie und Gynäkologie Dr. med. Ludwig K o c h und seiner Ehefrau Gerta, geborene C h a r e s, in Werdau in Sachsen geboren.

Von 1942 bis 1950 besuchte ich in meiner Heimatstadt die Volksschule. Die Oberschulausbildung schloß ich 1954 mit dem Abitur ab. 1956 bestand ich an der Leipziger Karl-Marx-Universität das Physikum. Bis zum Dezember 1958 studierte ich in Leipzig. Im Mai 1959 setzte ich mein Medizin-Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen fort. Dort bestand ich am 27. Februar 1961 vor dem ärztlichen Prüfungsausschuß das Staatsexamen. Anschließend arbeitete ich als Medizinal-Assistent an einer neurologisch-psychiatrischen Klinik und an der Universitäts-Frauenklinik in Erlangen. Seit Januar 1962 bin ich mit zweimonatiger Unterbrechung am Stadtkrankenhaus in Forchheim tätig. Dort leistete ich auch meine internistische und chirurgische Medizinal-Assistentenzeit ab. Nach Erlangung der Approbation im Juni 1963 wurde ich als Assistenzarzt am Forchheimer Krankenhaus angestellt. Im Februar 1964 beginne ich mit der geburtshilflich-gynäkologischen Facharztausbildung an der Städtischen Frauenklinik in Bayreuth.

GEDRUCKT BEI LUDWIG MÜLLER ERLANGEN